

代谢组学评价方法在支气管哮喘研究中的应用进展

李慧茹¹ 段春磊¹ 周林琼¹ 王明航^{1,2}

¹河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450000; ²河南中医药大学第一附属医院呼吸科, 河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发省部共建协同创新中心, 河南省中医药防治呼吸病重点实验室, 郑州 450046

通信作者: 王明航, Email: wmh107hn@163.com

【摘要】 支气管哮喘(哮喘)是一种复杂的异质性疾病,其漏诊率、误诊率极高,且反复发作可引起慢性阻塞性肺疾病、肺气肿、肺源性心脏病等并发症。近年来,基于质谱技术的代谢组学快速发展,它能敏感地捕捉哮喘患者体内的代谢波动和病理改变,通过对体内各种代谢途径的底物和产物的小分子代谢物进行分析,寻找疾病的生物标志物,为哮喘的早期诊断和严重程度评估提供一种较好的方法。通过查阅国内外相关文献,分析归纳代谢组学技术在哮喘发病机制、早期诊断及严重程度评估方面的研究进展,以期对哮喘的研究提供参考。

【关键词】 代谢组学; 支气管哮喘; 发病机制; 诊断; 严重程度评估

基金项目: 国家自然科学基金(81473649, 81873278); 国家中医药管理局中医药古籍文献和特色技术传承专项(GZY-KJS-2020-075); 河南省中医药科学研究专项(2017ZY1012, 2018JDZX113, 2019JDZX2003); 河南省特色学科中医学学科建设项目(STG-ZYXKY-2020001, STG-ZYXKY-2020002)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210128-00157

Application progress of metabolomics evaluation methods in bronchial asthma

Li Huiru¹, Duan Chunlei¹, Zhou Linqiong¹, Wang Minghang^{1,2}

¹First Clinical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan, China;

²Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine Respiratory Disease Diagnosis and Treatment and New Drug Research and Development Provincial and Ministry Co-built Collaborative Innovation Center, Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Treatment of Respiratory Diseases, Zhengzhou 450046, Henan, China

Corresponding author: Wang Minghang, Email: wmh107hn@163.com

【Abstract】 Bronchial asthma (asthma) is a complex heterogeneous disease, with a high rate of missed diagnosis and misdiagnosis. Repeated attacks of bronchial asthma can cause complications such as chronic obstructive pulmonary disease, emphysema, and pulmonary heart disease. In recent years, mass-spectrometry-based metabolomics has developed rapidly. It can sensitively identify metabolic fluctuations and pathological changes in patients with asthma. By analyzing the molecules produced by various metabolic pathways, it can help us to find relevant biomarkers and provide a better method for early diagnosis and severity assessment of asthma. We reviewed and analyzed the literature of metabolomics technology in disease progression, early diagnosis and severity assessment, so as to provide reference for asthma research.

【Key words】 Metabolomics; Bronchial asthma; Pathogenesis; Diagnosis; Evaluation of severity

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81473649, 81873278); Special Project of Ancient Chinese Medicine Literature and Characteristic Technology Inheritance of State Administration of Traditional Chinese Medicine (GZY-KJS-2020-075); Special Project of Henan Province for Scientific Research of Traditional Chinese Medicine (2017ZY1012, 2018JDZX113, 2019JDZX2003); Subject Construction Project of Traditional Chinese Medicine in Henan Province (STG-ZYXKY-2020001, STG-ZYXKY-2020002)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210128-00157

支气管哮喘(哮喘)具高度异质性,是一种由多种细胞(包括嗜酸粒细胞、肥大细胞、气道上皮细胞等炎性细胞和结构细胞)和细胞组分参与的慢性气道炎症性疾病。近年来哮喘发病率逐年上升,到2025年,全世界范围内预估会有4亿例哮喘患者^[1]。中国成人肺部健康研究组公布,我国20岁及以上人群的哮喘发病率为4.2%;我国4570万例成人哮喘患者中仅有28.8%得到过明确诊断^[2]。由于哮喘的异质性,对其诊断及治疗比其他慢性疾病更加困难^[3],因此,制定针对性措施,重点加强修补哮喘预防、诊断及治疗中的关键性短板迫在眉睫。代谢产物对于大部分复杂疾病具有

很高的预测性^[4],同时也渗透到哮喘领域,目前与呼吸系统疾病相关的代谢组学研究已受到热切关注。

代谢组学是系统生物学的重要分支,主要研究生物体对内外刺激的整体代谢应答规律。传统观念认为一种生物标志物可以用于预测或诊断某种疾病,如血清肌酐升高意味着肾功能损害,但在疾病进展或环境动态变化的过程中,一种生物标志物无法准确、敏感地对疾病作出预测和诊断^[5]。而代谢组学通过分析不断变化的代谢谱,寻找与其相关的生物标志物,阐明相关的代谢路径,可对机体整体的状态及其功能作出综合评估^[6],相较于传统的分析方法更为整体、全

面,可对机体受到疾病损害前后发生动态变化的小分子代谢产物进行定量、定性分析^[7],进而探究其应用于发病机制研究及临床诊断的可行性。现就代谢组学技术在哮喘发病机制、早期诊断、严重程度评估及中医治疗等方面的研究进展进行综述,以期对哮喘的研究提供参考。

1 代谢组学研究样本来源

基于代谢组学,与哮喘相关的代谢物主要来源于血液、尿液、呼出气冷凝液(exhaled breath condensate, EBC)和支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)。尿液和血液因其含有数千种可检测的代谢物,且可通过无创或微创的方法获得,故为代谢组学研究中常用的样本来源^[8]。EBC是呼气后产生的一种高度稀释的体液,其检测具有无创、易操作、可反复进行等优点,在肺部疾病研究中高度可行^[9]。BALF中含有最接近肺部压力或损伤部位的化合物,故通常优选BALF替代血浆作为诊断和研究慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、哮喘等肺部疾病最有价值的生物标本^[10]。通过对尿液、外周血、EBC及BALF进行分析,了解哮喘可能的发病机制,可为哮喘的诊断、严重程度评估、规范化治疗及管理提供理论依据。

2 代谢组学研究常用技术

科学仪器的创新进步和可用计算资源的进步,引领了代谢产物研究的革命及代谢组学领域的发展。常用技术主要包括氢-1核磁共振波谱法(¹H-nuclear magnetic resonance spectroscopy, ¹H-NMR)、液相色谱-质谱法(liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS)和气相色谱/质谱法(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)等。由于代谢产物在生物系统中的浓度范围(纳摩尔至毫摩尔)变化很大^[11],而LC/MS对纳摩尔浓度比较敏感,能更好地分离和检测不同化学性质的代谢物,如水和脂类代谢物,故LC/MS最常用于代谢组学研究^[5],目前已用于急性百草枯中毒等临床疾病的早期诊断^[12]。随着色谱与质谱联用及核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)的不断发展,代谢组学研究从传统假设检验研究中仅能检测少量代谢产物,到现在能够快速、准确并且同时定量数百至数千个代谢产物。

3 代谢组学数据处理分析

目前代谢组学数据处理大多使用多元数据分析方法,该统计方法通过对各个因素综合分析,能同时分析多个数据结果,发现其内在关联,可使研究结果偏差更小^[13],故采用此方法研究各代谢物及代谢途径。代谢物之间的差异可通过分析NMR图谱,并利用模式识别方法进行区分,分析方法包括主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二次乘法(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)和偏最小二次乘法判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)等,其中OPLS-DA可以更好地区分组间差异,它通过结合相关的代谢物数据库,挖掘其中蕴含的生物学信息,以阐明相关的代谢通路^[10,14]。

4 代谢组学在哮喘中的应用

4.1 代谢组学在哮喘发病机制方面的研究:哮喘是一种复

杂的异质性疾病,发病因素包括多个方面,但其发病机制尚未完全阐明,但普遍认同“遗传因素、外界环境及过敏体质共同作用”的观点。代谢产物的变化代表了机体综合的病理生理特征,有研究者认为,代谢组学非常适合研究与环境病原学相关的疾病,可反映哮喘中发生的基因组-环境相互作用^[15-16]。

魏庆宇等^[17]发现,与正常对照组相比,哮喘模型组大鼠BALF中白细胞介素-5、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、肿瘤坏死因子- α 和可溶性白细胞介素-2受体含量显著升高,在哮喘的疾病进展过程中具有协同作用,其中白细胞介素-5起核心介导作用。Kertys等^[18]发现,致敏豚鼠较未致敏豚鼠血浆中总磷脂酰胆碱计数、肉碱、对称的二甲基精氨酸以及犬尿氨酸与色氨酸比值降低,而牛磺酸和蛋氨酸亚砷与未修饰蛋氨酸的比例增加,说明这些代谢产物参与了炎症和氧化应激反应,且大部分与哮喘或过敏有关。乳酸和苹果酸是在低氧或炎症情况下异常肺呼吸过程中能量代谢的产物^[19]。Ho等^[20]基于代谢组学对过敏性哮喘小鼠BALF进行分析,发现代谢产物中乳酸和苹果酸水平升高,且与巨噬细胞及嗜酸粒细胞(嗜酸粒细胞增多是哮喘的一个重要特征^[21])存在显著正相关。Chiu等^[22]和Abrahamsson等^[23]通过尿液样本分析成功鉴定出微生物衍生代谢产物,即肠道细菌产生的饮食化合物氧化三甲胺与食物过敏和儿童哮喘有关。

4.2 代谢组学在哮喘诊断方面的研究:目前对哮喘的诊断不容乐观,气喘、咳嗽和胸闷等非特异性症状使哮喘与其他疾病难以区分,我国哮喘的漏诊率为8.26%~85.86%^[24],同时也存在过度诊断^[25]。Aaron等^[25]研究发现,在初次诊断时未进行肺功能检查的患者中有1/3无法确定是否患有哮喘,且2%的患者曾患有严重的心肺疾病而被误诊为哮喘。由于哮喘非特异性症状的存在,仅依靠临床症状、病史,对于一些特殊类型的哮喘,或激发试验阴性但仍高度怀疑哮喘的患者很难鉴别,代谢组学在其诊断方面提供了有力支持。

Chang-Chien等^[26]采用PLS-DA技术对EBC的代谢组学特征进行分析,推断丙酮酸和甲烷可鉴别社区亚裔哮喘儿童与非哮喘儿童,其鉴别性能优于传统的呼出气一氧化氮测定(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)或肺功能等临床测试。Tian等^[27]基于LC/MS代谢组学技术比较了哮喘患者与健康者之间的痰代谢谱,发现甘油磷脂代谢、肌醇磷酸代谢以及糖酵解或糖异生等几种重要的代谢途径可用于哮喘的早期诊断和风险预测,从而大大提高对哮喘的诊断。Chawes等^[28]应用LC/MS对171例哮喘新生儿与161例健康新生儿4周龄时的尿液进行分析,发现在哮喘新生儿尿液中胆汁酸的含量较高,而类固醇含量较低,揭示生命早期的代谢紊乱预示着学龄前哮喘的发作。Matysiak等^[29]通过分析哮喘儿童血清中大量游离氨基酸发现,与健康儿童比较,哮喘患儿血清牛磺酸、L-缬氨酸、DL- β -氨基异丁酸水平降低,而 β -氨基-正丁酸和L-精氨酸水平升高,游离氨基酸水平的改变可有效诊断儿童哮喘并进一步了解其发病机

制,且有助于将新的诊断标志物引入临床实践。

4.3 代谢组学在哮喘严重程度评估方面的研究:哮喘可由不同的表型组成,这些表型由不同的机制途径驱动,但大多仍根据其严重程度来采用相应的治疗方法,而代谢产物可以帮助区分这些表型以及哮喘的严重程度,以便确定适合患者的靶向疗法^[30]。

Ntontsi 等^[31]采用 NMR 和 LC/MS 对 EBC 进行分析,发现赖氨酸可将重度哮喘与非重度哮喘(轻度至中度哮喘)区分开,且是区分哮喘严重程度的唯一代谢物。Carraro 等^[32]通过研究 EBC 代谢组学发现,重度哮喘患儿、非重度哮喘患儿及健康儿童分别具有特定的代谢组学特征,维甲酸、腺苷和维生素 D 相关的化合物可清晰地区分不同哮喘代谢表型。Reinke 等^[33]采用 LC/MS 对 22 例健康者和 54 例哮喘患者(轻度 12 例,中度 20 例,重度 22 例)的血清进行分析,发现轻度哮喘组牛磺酸、苯丙氨酸、黄嘌呤和精氨酸的含量略有降低,脯氨酰-羟脯氨酸(仅由 2 个氨基酸组成的胶原蛋白片段)和 N-帕米替牛磺酸含量升高;而中度和重度哮喘组各指标的变化则相反;另外,甲基硫代腺苷在中度哮喘组略有降低,而在重度哮喘组明显升高;皮质醇仅在重度哮喘组降低;油酰乙醇酰胺随哮喘严重程度加重而升高。赵蕴伟等^[34]发现,随着哮喘发作期患者病情加重,血中 1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)水平逐渐升高,其对哮喘严重程度的评估具有重要意义。

4.4 代谢组学在哮喘中医治疗方面的研究:中医证候是疾病发生发展过程中某一阶段表现在整体层次上的机体反应状态,具有动态性、整体性等特点;代谢组学研究通过分析机体内源性代谢产物或代谢路径以了解机体的整体功能状态,与其特点相吻合^[35]。因此,国内也开展了许多关于代谢组学在中医中应用的研究,将代谢组学与哮喘生物作用紧密联系起来,可为其异质性和特异性靶向治疗提供依据^[36]。

胡作为等^[37]和张在其等^[38]认为中药有抗哮喘气道炎症的作用,在哮喘治疗过程中,将西药与扶正固本中药联合使用会取得显著效果,且可减少不良反应。余鹏飞和宋红^[39]采用 LC/MS 对肾气虚证哮喘患者的尿液进行分析,推测镇喘保肺汤可能通过抑制酪氨酸合成,从而达到控制哮喘发作的目的。宋红等^[40]利用 NMR 探讨肾气虚证哮喘模型大鼠血清代谢特征,发现益肾喘宁汤通过促进机体脂类代谢,以改善机体能量代谢缺乏状态来治疗肾气虚证哮喘。李媛等^[41]采用 ¹H-NMR 研究还贝止咳方对咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)豚鼠模型的作用机制,发现还贝止咳方能显著延长 CVA 豚鼠的咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数,可通过调控能量代谢、氨基酸代谢等途径来治疗 CVA。

5 问题与展望

哮喘临床表现为反复发作的喘息、气急,伴或不伴胸闷或咳嗽等症状,以可逆性气流受限和气道高反应性为特征,长期反复发作可致 COPD、肺源性心脏病等慢性并发症,影响患者生活质量,因此,正确诊断、评估哮喘的严重程度,对于哮喘规范化治疗和管理具有重要意义。代谢组学对特定

生物体中的各种分子进行整体表征和定量分析,由此揭示生命活动的规律,以尽早观察到患者代谢水平的变化,探索疾病潜在的发病机制,可对疾病进行分型,监测疾病的反应和复发,并对治疗反应进行可靠的分析等,更准确地描述特定疾病及其进展,并极大地有助于鉴别诊断,从而对指导个体化治疗有着重大意义。Beger 等^[42]认为,代谢组学引领了精准医疗研究的进步和发展方向,当今医学界使用的化学分析方法范围较窄,将来会被更全面的代谢特征的分析方法所取代。

目前有关哮喘的代谢组学研究已获得一定成果,但仍存在一些不足:①关于代谢组学在哮喘发病机制、诊断、严重程度评估方面均发现了特殊代谢产物或代谢通路,但种类较多,缺乏同一性,仍需临床试验进一步验证;②目前鲜见多中心、大样本的高级别循证临床研究支持哮喘患者代谢水平与发病机制、诊断、严重程度评估的内在关联,仍需进一步研究证实其相关结论;③目前代谢组学发病机制的研究多采用动物模型,其研究结果是否适用于人体有待进一步验证;④代谢组学在哮喘表型区分、疾病鉴别方面的研究较多,而在哮喘治疗及预后方面的研究则较少。综上,目前现有的研究证据不足以完全揭示哮喘患者的代谢水平特征,因此需设计更为精密严谨的重复性试验,扩大样本量,以提高研究证据级别,获得更加准确可靠的分析结果。同时,通过代谢组学与其他组学如基因组学、转录组学技术整合,以确定不同层次的相互作用,有望得到更有临床价值和指导意义的生物信息。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [J]. *Eur Respir J*, 2008, 31 (1): 143-178. DOI: 10.1183/09031936.00138707.
- [2] China Pulmonary Health (CPH) Study Group. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10196): 407-418. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31147-X.
- [3] Knuffman JE, Sorkness CA, Lemanske RF Jr, et al. Phenotypic predictors of long-term response to inhaled corticosteroid and leukotriene modifier therapies in pediatric asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123 (2): 411-416. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.11.016.
- [4] Xia JG, Broadhurst DI, Wilson M, et al. Translational biomarker discovery in clinical metabolomics: an introductory tutorial [J]. *Metabolomics*, 2013, 9 (2): 280-299. DOI: 10.1007/s11306-012-0482-9.
- [5] Stringer KA, McKay RT, Karnovsky A, et al. Metabolomics and its application to acute lung diseases [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 44. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00044.
- [6] Robertson DG, Watkins PB, Reilly MD. Metabolomics in toxicology: preclinical and clinical applications [J]. *Toxicol Sci*, 2011, 120 Suppl 1: S146-170. DOI: 10.1093/toxsci/kfq358.
- [7] Nobakht M Gh BF, Aliannejad R, Rezaei-Tavirani M, et al. The metabolomics of airway diseases, including COPD, asthma and cystic fibrosis [J]. *Biomarkers*, 2015, 20 (1): 5-16. DOI: 10.3109/1354750X.2014.983167.
- [8] Nambiar S, Bong How S, Gummer J, et al. Metabolomics in chronic lung diseases [J]. *Respirology*, 2020, 25 (2): 139-148. DOI: 10.1111/resp.13530.
- [9] Ibrahim B, Marsden P, Smith JA, et al. Breath metabolomic profiling by nuclear magnetic resonance spectroscopy in asthma [J]. *Allergy*, 2013, 68 (8): 1050-1056. DOI: 10.1111/all.12211.
- [10] Walmsley S, Cruickshank-Quinn C, Quinn K, et al. A prototypic small molecule database for bronchoalveolar lavage-based

- metabolomics [J]. *Sci Data*, 2018, 5: 180060. DOI: 10.1038/sdata.2018.60.
- [11] Sas KM, Karnovsky A, Michailidis G, et al. Metabolomics and diabetes: analytical and computational approaches [J]. *Diabetes*, 2015, 64 (3): 718–732. DOI: 10.2337/db14-0509.
- [12] 宋德婷, 刘智玲, 张义雄, 等. 代谢组学测定对急性百草枯中毒大鼠的判定作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (4): 329–333. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.008.
- Song CT, Liu ZL, Zhang YX, et al. Diagnostic effect of metabolomics determination method on acute paraquat poisoning [J]. *Chin Crit Care Med*, 2016, 28 (4): 329–333. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.008.
- [13] 付佳楠. 多元 meta 分析模型在大数据分析中的应用 [D]. 昆明: 云南财经大学, 2019.
- Fu JN. Application of multivariate meta-analysis model in big data analysis [D]. Kunming: Yunnan University of Finance and Economics, 2019.
- [14] Bjerrum JT. Metabolomics: analytical techniques and associated chemometrics at a glance [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1277: 1–14. DOI: 10.1007/978-1-4939-2377-9_1.
- [15] Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17 (7): 451–459. DOI: 10.1038/nrm.2016.25.
- [16] Kelly RS, Dahlin A, McGeachie MJ, et al. Asthma metabolomics and the potential for integrative omics in research and the clinic [J]. *Chest*, 2017, 151 (2): 262–277. DOI: 10.1016/j.chest.2016.10.008.
- [17] 魏庆宇, 董瑞, 杨春山, 等. 加味玉屏风散对哮喘大鼠支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14 (5): 299–302. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2007.05.013.
- Wei QY, Dong R, Yang CS, et al. Study on change and correlation of cytokine in broncho-alveolar lavage fluid in asthmatic rat and the effect of augmented jade screen powder on their contents [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2007, 14 (5): 299–302. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2007.05.013.
- [18] Kertys M, Grendar M, Kosutova P, et al. Plasma based targeted metabolomic analysis reveals alterations of phosphatidylcholines and oxidative stress markers in guinea pig model of allergic asthma [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866 (1): 165572. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.165572.
- [19] Wolak JE, Esther CR Jr, O'Connell TM. Metabolomic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from cystic fibrosis patients [J]. *Biomarkers*, 2009, 14 (1): 55–60. DOI: 10.1080/13547500802688194.
- [20] Ho WE, Xu YJ, Xu FG, et al. Metabolomics reveals altered metabolic pathways in experimental asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48 (2): 204–211. DOI: 10.1165/rmb.2012-0246OC.
- [21] 张玉环, 李才, 邢杰. 中西医结合治疗支气管哮喘疗效及细胞因子的观察 [J]. *中西医结合实用临床急救*, 1999, 6 (3): 105. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.1999.03.003.
- Zhang YH, Li C, Xing J. Observation on curative efficacy and changes in cytokines during treatment for asthma with integrated traditional Chinese and Western medicine [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 1999, 6 (3): 105. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.1999.03.003.
- [22] Chiu CY, Lin G, Cheng ML, et al. Longitudinal urinary metabolomic profiling reveals metabolites for asthma development in early childhood [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2018, 29 (5): 496–503. DOI: 10.1111/pai.12909.
- [23] Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, et al. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age [J]. *Clin Exp Allergy*, 2014, 44 (6): 842–850. DOI: 10.1111/cea.12253.
- [24] Adamko DJ, Nair P, Mayers I, et al. Metabolomic profiling of asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a pilot study differentiating diseases [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136 (3): 571–580. e3. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.05.022.
- [25] Aaron SD, Vandemheen KL, FitzGerald JM, et al. Reevaluation of diagnosis in adults with physician-diagnosed asthma [J]. *JAMA*, 2017, 317 (3): 269–279. DOI: 10.1001/jama.2016.19627.
- [26] Chang-Chien J, Huang HY, Tsai HJ, et al. Metabolomic differences of exhaled breath condensate among children with and without asthma [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2021, 32 (2): 264–272. DOI: 10.1111/pai.13368.
- [27] Tian M, Chen M, Bao YL, et al. Sputum metabolomic profiling of bronchial asthma based on quadruple time-of-flight mass spectrometry [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10 (10): 10363–10373.
- [28] Chaves BL, Giordano G, Pirillo P, et al. Neonatal urine metabolic profiling and development of childhood asthma [J]. *Metabolites*, 2019, 9 (9): 185. DOI: 10.3390/metabo9090185.
- [29] Matysiak J, Klupczynska A, Packi K, et al. Alterations in serum-free amino acid profiles in childhood asthma [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17 (13): 4758. DOI: 10.3390/ijerph17134758.
- [30] Chung KF. Precision medicine in asthma: linking phenotypes to targeted treatments [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24 (1): 4–10. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000434.
- [31] Ntontsi P, Ntzoumanika V, Loukides S, et al. EBC metabolomics for asthma severity [J]. *J Breath Res*, 2020, 14 (3): 036007. DOI: 10.1088/1752-7163/ab9220.
- [32] Carraro S, Giordano G, Reniero F, et al. Asthma severity in childhood and metabolomic profiling of breath condensate [J]. *Allergy*, 2013, 68 (1): 110–117. DOI: 10.1111/all.12063.
- [33] Reinke SN, Gallart-Ayala H, Gómez C, et al. Metabolomics analysis identifies different metabolites of asthma severity [J]. *Eur Respir J*, 2017, 49 (3): 1601740. DOI: 10.1183/13993003.01740-2016.
- [34] 赵蕴伟, 徐意芹, 李爽, 等. 哮喘发作期血清 S1P 水平对哮喘患者病情严重程度的评估价值 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (9): 794–798. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.09.006.
- Zhao YW, Xu YQ, Li S, et al. Role of serum S1P levels during asthma attack in the evaluation of asthma severity [J]. *Chin Crit Care Med*, 2017, 29 (9): 794–798. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.09.006.
- [35] 宋红, 郑小伟, 王颖, 等. 基于核磁共振技术的益肾喘宁汤对支气管哮喘肾虚证模型大鼠血清代谢组学的影响 [J]. *中医杂志*, 2016, 57 (11): 962–965. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.11.017.
- Song H, Zheng XW, Wang Y, et al. Effect of Yishen Chuanning decoction on serum metabolomics in rats model with bronchial asthma of kidney-qi deficiency syndrome: based on nuclear magnetic resonance techniques [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 57 (11): 962–965. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.11.017.
- [36] 林燕. 基于代谢组学的肺卫气虚证候变化规律及中药复方干预的临床研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.
- Lin Y. Metabolomics based on the change of lung qi deficiency syndrome and the clinical study of Chinese herbal compound intervention [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2014.
- [37] 胡作为, 周燕萍, 王鹏. 中药止咳平喘方对哮喘豚鼠模型 Th1/Th2 细胞的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10 (5): 307–309. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2003.05.017.
- Hu ZW, Zhou YP, Wang P. Effects of traditional Chinese herbs Zhixiao Pingchuan prescription on Th1/Th2 cells in guinea-pigs asthma model [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2003, 10 (5): 307–309. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2003.05.017.
- [38] 张在其, 梁仁, 黄建明, 等. 小青龙汤对哮喘小鼠肺组织 Th1/Th2 作用的实验研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2004, 11 (6): 368–371. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2004.06.011.
- Zhang ZQ, Liang R, Huang JM, et al. Experimental study of Xiaolonglong decoction on Th1/Th2 balance in the lungs of mice models of asthma [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2004, 11 (6): 368–371. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2004.06.011.
- [39] 余鹏飞, 宋红, 基于液质联用技术对镇喘保肺汤治疗肾气虚证支气管哮喘人体尿液代谢组学分析 [J]. *浙江中医杂志*, 2019, 54 (2): 86–89. DOI: 10.3969/j.issn.0411-8421.2019.02.005.
- Yu PF, Song H. Urine metabolomics analysis of Zhenchuan Baofei decoction in treatment of bronchial asthma with kidney-qi deficiency syndrome based on liquid-mass treatment technology [J]. *Zhejiang J Tradit Chin Med*, 2019, 54 (2): 86–89. DOI: 10.3969/j.issn.0411-8421.2019.02.005.
- [40] 宋红, 郑小伟, 鲍晓东, 等. 基于核磁共振技术的模式识别方法在肾气虚哮喘大鼠血清代谢组学中的应用 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32 (1): 259–262.
- Song H, Zheng XW, Bao XD, et al. Application of NMR-based pattern recognition in serum metabolomics of rats with kidney-qi deficiency of asthma [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2017, 32 (1): 259–262.
- [41] 李媛, 张雯霞, 何盼, 等. 基于 ¹H-NMR 代谢组学的还贝止咳方对咳嗽变异性哮喘豚鼠的干预作用 [J]. *中草药*, 2018, 49 (10): 2230–2239. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.10.002.
- Li Y, Zhang WX, He P, et al. Effects of Huanbei Zhike recipe on cough variant asthma model guinea pig based on ¹H-NMR metabolomics [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2018, 49 (10): 2230–2239. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.10.002.
- [42] Begeer RD, Dunn W, Schmidt MA, et al. Metabolomics enables precision medicine: "A White Paper, Community Perspective" [J]. *Metabolomics*, 2016, 12 (10): 149. DOI: 10.1007/s11306-016-1094-6.